

Z. klin. Chem. u. klin. Biochem.  
7. Jg., S. 553—555, September 1969

## Untersuchungen über die Aktivität und das Isoenzymmuster der Fructose-Phosphataldolase<sup>1)</sup> im Serum von Hunden mit experimentellem Myokardinfarkt

Von A. L. DIKOW und S. N. TSHAKYROW

*Aus der Biochemischen Abteilung des Onkologischen Forschungsinstituts (Direktor: Prof. Dr. N. Antschev) und der Abteilung für Pathologische Physiologie des Wissenschaftlichen Forschungsinstituts für Hämatologie und Bluttransfusion (Direktor: Prof. Dr. V. Serafimov), Sofia/Bulgarien*

(Eingegangen am 31. März 1969)

In vorliegender Arbeit werden die Veränderungen der Gesamtaktivität und das Isoenzymmuster der Serumaldolase an Hunden untersucht, bei welchen ein experimenteller Myokardinfarkt unter den Bedingungen eines zweizeitigen Versuches hervorgerufen worden war.

Festgestellt wurde eine Erhöhung der Enzymaktivität über 500% im Vergleich zum Ausgangsniveau und Veränderungen im Isoenzymmuster, die sich durch mehrfache Intensitätserhöhung einiger Fraktionen sowie das Hervortreten neuer Enzymfraktionen äußerten. Nur einige dieser Fraktionen stimmen nach ihrer elektrophoretischen Beweglichkeit mit den entsprechenden Fraktionen der Herzmuskelaldolase überein.

Dies unterstützt die Auffassung, daß unter dem Einfluß des pathologischen Prozesses im Myokard eine allgemeine Reaktion im Organismus auftritt.

### *Studies on the activity and pattern of isoenzymes of fructose phosphate aldolase in the serum of dogs with experimental myocardial infarction*

Changes in the total activity and the pattern of isoenzymes of serum aldolase were studied in dogs, in which an experimental myocardial infarction was caused by putting the animal into a chronic condition experimentally.

The enzyme activity increased more than 500% compared to the starting value; there were changes in the isoenzyme pattern caused by a several fold increase in the intensity of some fractions and by the appearance of new enzyme fractions. Not all of the new enzyme fractions corresponded electrophoretically to fractions of heart muscle aldolase.

These results support the view that the pathological processes in the myocardium cause a general reaction in the organism.

Verschiedene Verfasser beobachteten an Kranken mit Myokardinfarkt eine Aktivitätserhöhung bei einer Reihe von Serumenzymen, wie: Lactatdehydrogenase (EC 1.1.1.27), Aspartat-aminotransferase (EC 2.6.1.1), Alanin-aminotransferase (EC 2.6.1.2), Kreatinkinase (EC 2.7.3.2), Aldolase<sup>1)</sup> usw. Die Bestimmung dieser Enzyme ist ebenso wichtig für die Diagnose und Prognose dieser Krankheit wie die Elektrokardiographie und andere klinische Laboruntersuchungen. Die Veränderungen dieser Serumenzyme sind nicht nur an klinischem Material, sondern auch bei experimentell verursachtem Myokardinfarkt an Tieren eingehend untersucht worden. Untersuchungen über die Gesamtaktivität der Serumaldolase bei Hunden mit experimentellem Myokardinfarkt wurden ebenfalls durchgeführt (1—5), wobei eine Abhängigkeit zwischen der Schwere des Infarkts und den Veränderungen der Serumaldolase (2, 3) nachgewiesen wurde.

In der vorliegenden Arbeit haben wir uns die Aufgabe gestellt, die Gesamtaktivität und das Isoenzymmuster der Serumaldolase an Hunden mit experimentellem Myokardinfarkt zu untersuchen.

eines chronischen Versuchs verursacht, indem ramus interventricularis arteriae coronaris sinistrae und vena cordis magna ligiert wurden. Der Eingriff wurde in zwei Etappen durchgeführt. In der ersten Etappe wurde unter Intubationsnarkose mit Thiopental<sup>2)</sup> eine Thorakotomie im V. linken Intercostalraum durchgeführt. Nach Durchtrennen des Perikards wurde ein Kapronfaden unter die Arterie und die Vene gezogen, ohne die Ligatur festzuziehen. Die beiden Fadenenden wurden durch ein Kunststoffröhrchen geleitet, das bis zum Perikard und zur VI. Rippe reichte und dann hinausgeführt. Es folgte Schließen der Brustwand und Aspirieren der Luft aus der Pleurahöhle. Eine Woche später wurde unter leichter Thiopentalnarkose die Ligatur festgezogen, wodurch ein Myokardinfarkt (im Umfang von etwa 20 mm) der Vorderwand der linken Herzkammer verursacht wurde. Der Myokardinfarkt wurde elektrokardiographisch und am 15. Tage nach Versuchsbeginn pathologisch-anatomisch nachgewiesen. Den Hunden wurde venöses Blut in heparinisierten Gefäßen vor der Thorakotomie und vor dem Festziehen der Ligatur entnommen, so wie in der 24. und 48. Std. und am 5., 10. und 15. Tage nach Infarkteintritt. Wir untersuchten das nach dem Zentrifugieren gewonnene Plasma. Die Gesamt-Aldolaseaktivität wurde mit der Aldolase UV-Test-Combination, Fa. Boehringer, Mannheim, bestimmt.

Das Isoenzymmuster der Aldolase wurde nach der Elektrophorese auf Agarosegel mit Tris-EDTA-Borsäure Puffer pH 8,9 (6) dargestellt, wie früher beschrieben (7).

### Ergebnisse

Zwei Hunde starben einige Stunden nach Eintritt des Infarkts, so daß nur noch 5 Tiere bis Versuchsende be-

### Material und Methoden

Als Versuchstiere dienten 7 gesunde Hunde-Bastarde von 6 bis 13 kg Gewicht. Der Myokardinfarkt wurde unter Bedingungen

<sup>1)</sup> Fructose-Phosphat-Aldolase: EC 4.1.2.7 und EC 4.1.2.13.

<sup>2)</sup> Thiopental 25 mg pro kg Körpergewicht.

obachtet werden konnten. Die Gesamtaktivitäten der Serumaldolase sind in Tabelle 1 dargestellt.

Tab. 1  
Gesamtaktivität der Serumaldolase in mU/ml (A) und prozentuale Aktivitätserhöhung gegenüber dem Ausgangsniveau vor dem Infarkt (B)

	Vor der Thorakotomie	Vor dem Infarkt	24 Std.	48 Std.	5 Tage nach Infarkteintritt	10 Tage	15 Tage
A	8,17	11,24	57,20	39,95	20,43	13,17	13,62
B	—	—	509%	355%	181%	118%	122%

Die Ergebnisse weisen auf eine wesentliche Erhöhung der Serumaldolase infolge des Infarkts hin, die ihren Höhepunkt in der 24. Stunde erreicht, um bis zum 15. Tage das Ausgangsniveau allmählich wieder zu erreichen.

Das Isoenzymmuster der Aldolase in Herzmuskel und Serum ist auf Abbildung 1 veranschaulicht. Vor der Thorakotomie werden im Isoenzymmuster 5 anodische Fraktionen beobachtet, die im Bereich der  $\alpha$ - und  $\beta$ -

Globuline des Serums liegen. Intensiver ist jedoch nur die Fraktion unmittelbar an der Startlinie (Abb. 1b). Eine leicht erhöhte Intensität dieser Fraktion macht sich vor dem Festziehen der Ligatur, also vor Eintritt des Infarkts bemerkbar (Abb. 1c). Dagegen treten wesentliche Veränderungen im Isoenzymmuster nach dem Myokardinfarkt auf. Außer der stark erhöhten Intensität der an der Startlinie liegenden Fraktion, erscheinen anodisch neben ihr 2—3 neue Fraktionen, welche infolge ihrer starken Intensität und naher Position fast zusammenfließen. Von höherer Intensität ist ebenfalls die Fraktion, die sich im Bereich der Serum- $\alpha_2$ -Globuline befindet (Abb. 1d). Wenn auch etwas undeutlicher, findet man dieselben Veränderungen ebenfalls in der 48. Stunde nach dem Infarkt (Abb. 1e). Sie verlieren sich nach dem 10. Tag (Abb. 1g).

Im Isoenzymmuster des Aldolase des normalen Herzmuskels treten 8 Isoenzymfraktionen hervor. Vier von ihnen fließen wegen ihrer starken Intensität und naher Position zusammen und 4 deutlich voneinander abge sonderte Fraktionen liegen am anodischen Ende des Enzymogramms (Abb. 1a).

## Diskussion

Bei dem experimentell verursachten Myokardinfarkt im einzeitigen Versuch konnte festgestellt werden, daß von 400proz. Erhöhung der Serumaldolase 150—200% auf die Thorakotomie selbst zurückzuführen sind (5). Der unsererseits hervorgerufene Myokardinfarkt an Hunden unter den Bedingungen eines zweizeitigen Versuches, erlaubte uns den Einfluß der Thorakotomie auf die Veränderung der Serumenzyme und besonders der Aldolase auszuschließen.

Bei unseren Versuchen stieg die Gesamt-Aldolaseaktivität im Serum auf über 500% an, im Vergleich zu dem Niveau vor dem Festziehen der Ligatur. Die Höchstwerte wurden in der 24. Stunde nach dem Infarkt festgestellt, was mit anderen Beobachtungen (4, 5) übereinstimmt. Der hohe Anstieg der Serumaldolase bei unseren Versuchen ist auf den schweren Myokardinfarkt zurückzuführen, der bereits in den ersten Stunden den Tod zweier Versuchstiere zur Folge hatte. Der erhöhten Serumaldolase nach dem Infarkt entsprechen die Veränderungen im Isoenzymmuster. Sie äußern sich durch die mehrfache Intensitätserhöhung einiger der Isoenzymfraktionen, die bereits vor dem Infarkt hervortreten, sowie durch das Hervortreten neuer Fraktionen.

Nach der elektrophoretischen Beweglichkeit können einige dieser Fraktionen, und zwar diejenigen, die nahe an der Startlinie liegen, auf die entsprechenden Isoenzymfraktionen der Herzmuskelaldolase bezogen werden (Abb. 1a, d, e). Die übrigen veränderten oder neu hervorgetretenen Fraktionen, die sich im Bereich der Serum- $\alpha_2$ - und  $\beta_1$ -Globuline befinden, sind wahrscheinlich anderer Herkunft.

In unseren vorhergehenden Untersuchungen über das Isoenzymmuster der Serumaldolase bei Kranken mit infektiöser Hepatitis wurde ebenfalls festgestellt, daß

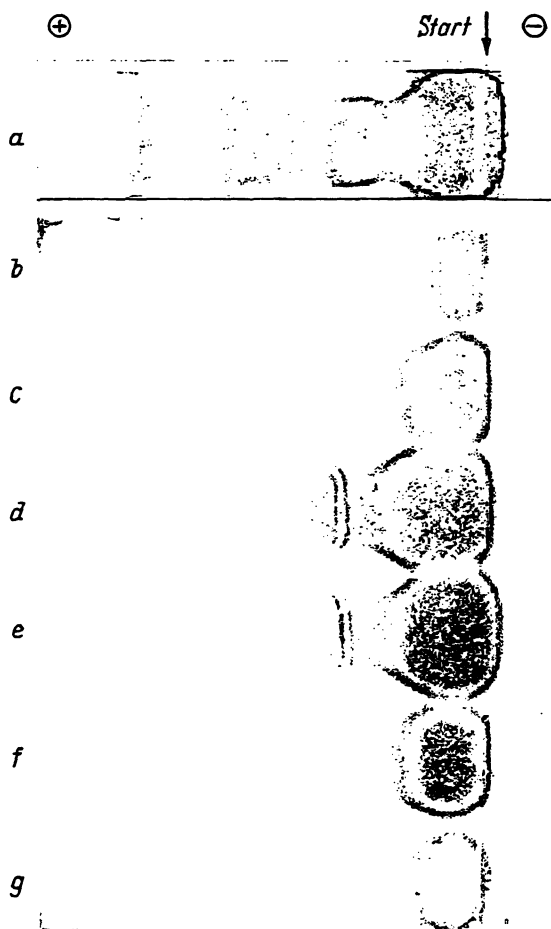


Abb. 1  
Isoenzymfraktionen der Serumaldolase und der Aldolase im Herzmuskel bei Hunden mit experimentellem Myokardinfarkt

a) im Herzmuskel

b)–g) im Serum

b) vor der Thorakotomie; c) vor dem Festziehen der Ligatur und vor dem Infarkt; d) 24. Stunde; e) 48. Stunde; f) 5. Tag; g) 10. Tag nach Infarkteintritt

nur einige der veränderten Isoenzymfraktionen vom Typ der Leber B-Aldolase sind. Die Frage der Herkunft der veränderten Isoenzymfraktionen der Serumaldolase ist eng mit den pathophysiologischen und pathobiochemischen Veränderungen verbunden, die im Organismus bei einem Mykardinfarkt auftreten, und sie könnte wohl kaum nur mit der Nekrose eines Teils der Herzmuskulatur erklärt werden. Unsere Untersuchungen

über die Veränderungen im Isoenzymspektrum der Serumaldolase bei einem Mykardinfarkt unterstützen die Ansicht, daß der Mechanismus der Veränderungen in den Serumenzymen bei dieser Krankheit sehr kompliziert ist und daß eine allgemeine Reaktion des Organismus unter Einwirkung des pathologischen Prozesses auftritt.

#### Literatur

1. VOLK, B., S. LOSNER, S. ARONSON und H. LEW, *Am. J. Med. Sci.*, 232, 38 (1956). — 2. LOSNER, S., B. VOLK und S. ARONSON, *Amer. Heart J.*, 54, 225, (1957). — TSHASOW, E. I. und M. M. SAWINA, *Bull. exper. Biol. Med. UdSSR*, 3, 41 (1958). — 4. POJER, J., M. SEVELA, E. NINGER und J. TOVAREK, *Carciologia*, 36, 145 (1960). — 5. KOROVKIN, B. F., „Die Fermente in der Diagnostik des Mykardinfarkts, S. 49, Med. Verlag, Leningrad, (1965). — 6. DIKOW, A. L. und V. GENOWA, *diese Z.*, 7, 155 (1969). — 7. DIKOW, A. L., *diese Z.*, 6, 386 (1968). — 8. DIKOW, A. L. und M. ROMANOW, *Zschr. ges. Inn. Med.*, 15, 471 (1968).

Dr. A. L. Dikow  
Boul. Chr. Botev 14  
Sofia/Bulgarien